Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.
Vorstand: Prof. Dr. F. Flury.

Pharmakologische Untersuchungen in der Gruppe der neutralen Saponine.

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Doktorwürde in der Medizin
vorgelegt von

Fritz Stumpf
aus Würzburg.

Würzburg 1937
Buchdruckerei Richard Mayr

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Referent: Professor Dr. phil. et med. Ferdinand Flury

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543526_0122

Die Bezeichnung „Saponin" findet sich in der Literatur zum ersten Mal im dritten, 1819 erschienenen Bande der ersten Auflage des Gmelin'schen Handbuches der theoretischen Chemie[1]).

Die Saponine stellen eine Gruppe von Glykosiden dar, die sich durch mehrere gemeinsame Merkmale auszeichnen. Es sind pflanzliche Stoffe, die, in Wasser gelöst, beim Schütteln einen haltbaren Schaum liefern. Dieser Wirkung, ähnlich der der Seifen, verdanken sie auch ihren Namen. Ferner ist ein hervorstechendes Merkmal die Fähigkeit, noch in großer Verdünnung auf rote Blutkörperchen auflösend zu wirken. Fische gehen in verdünnten Saponinlösungen rasch zugrunde. In Pulverform reizen Saponine zum Niesen, sie schmecken kratzend und wirken in größeren Dosen brechenerregend. Auf das Auge haben sie eine mehr oder minder kräftige Reizwirkung im Sinne einer schmerzhaften Entzündung mit reichlichem Tränenfluß. Bei intravenöser Einspritzung wirken schon kleine Dosen tödlich. Tuberkelbazillen sollen ihre Säurefestigkeit verlieren, während andere Bakterien teilweise in ihrer Lebenstätigkeit gefördert werden[2]). Schon in den ältesten Zeiten wurden saponinhaltige Pflanzen zum Fischfang und zum Reinigen verwendet. Technische Verwendung finden die Saponine heute vor allem als Waschmittel oder als Zusatz zu Waschmitteln, da sie nicht alkalisch reagieren, feinere Gewebe nicht angreifen und sich gegenüber Farbstoffen indifferent verhalten. In Amerika sind saponinhaltige Seifen zum Rasieren und als Toiletteseifen allgemein im Gebrauch. Ihr großes Schaumbildungsvermögen diente zur Verwendung in Feuerlöschapparaten. Ferner werden Saponine in England und Frankreich zur Herstellung dauerhafter Emulsionen, z. B. Lebertran- und Rizinusemulsionen gebraucht. Auch als Zusatz zu Schädlingsbekämpfungsmitteln sind Saponine empfohlen worden. Manchen Limonaden und anderen Getränken wird eine Spur von Saponin beigegeben, um gutes Schäumen zu gewährleisten. Auch Haarpflegemittel enthalten Saponin. Quillaja- und Seifenwurzelextrakt

1) Kofler, Die Saponine, Springer, Wien 1927, S. 1.
2) Tschesche, Angew. Chem. *48*, 569 (1935).

wird in der Weißgerberei bei der Herstellung von Schaffellen zur Entfettung der Häute verwendet.

Ihre sekretionsfördernden und schleimlösenden Eigenschaften wirken bei Katarrhen und Bronchitiden heilungsfördernd. Viel verwendet wird die Radix Senegae, die Wurze von Polygala Senegae L. Sie ist nach Tschirch[3]) ein altes Volksmittel eines nordamerikanischen Indianerstammes und wurde als Mittel gegen Schlangenbiß benutzt. Heute dient die Radix Senegae ausschließlich als Expektorans. Während des Krieges wurde diese teure Droge durch die billige Cortex Quillajae und die einheimische Radix Saponaria ersetzt.

Die Spanier fanden Sarsaparilla bei den Eingeborenen von Süd- und Mittelamerika in arzneilichem Gebrauch und brachten die Droge nach Europa, wo sie als Antisyphilitikum sich sehr rasch einbürgerte. Die gebräuchlichste Form war und ist die als wässerige Abkochung. Die größte Bedeutung erlangte das nach dem Dresdener Militär- und Hofarzt Zittmann benannte, in der 1. Hälfte des 17. Jahrhunderts als Geheimmittel angewendete Dekokt.

In China wird seit uralter Zeit unter dem Namen Ginseng das Rhizom der Araliacee Panax Ginseng G. A. Mayer als Heilmittel hochgeschätzt. Auch heute noch verwenden die Chinesen diese Saponindroge bei Syphilis, gegen Fieber und als Mittel zur Verlängerung des Lebens.

In Korea gibt der Kaiser hohen Würdenträgern, die sich in das Privatleben zurückziehen, einige Unzen Ginseng, um damit anzudeuten, daß dies das einzige ist, was Seine Majestät zur Verlängerung ihres Lebens tun kann[4]) [5]).

Auch als Diuretika wird eine Reihe von saponinhaltigen Pflanzen allein und in Verbindung mit anderen Drogen verwendet. Die beiden Saponindrogen, die auch heute noch ein gewisses Ansehen als Diuretika besitzen, sind Radix Ononidis und Herba Herniariae. Jedoch herrscht über die Diuresewirkung trotz mehrerer experimenteller Arbeiten zwischen den Autoren keine Übereinstimmung. Als Erklärung für die diuretische Wirkung der Saponine führt Ko-

3) A. Tschirsch, Handb. d. Pharmakognosie, 2. Bd., Abt. 2, S. 1536.
4) Tschirsch, l. c.
5) Insu Sun, Über die echte Ginsengwurzel. Inaug.-Diss. Würzburg 1934.

bert[6]) an, daß die Saponine das Nierenparenchym bei ihrem Durchgang zu vermehrter Tätigkeit anregen.

Infolge Anregung der Peristaltik und Drüsentätigkeit im Verdauungstrakt vermögen Saponine in größeren Dosen abführend zu wirken.

Bei der Behandlung des Fluors sah Zickgraf[7]) durch Spülungen mit verdünnten Saponinlösungen günstige Erfolge.

Die Dermatologie und Kosmetik verwendet Teer häufig in der Form des Liquor carbonis detergens. In Niederländisch-Indien dienen Saponinpflanzen heute noch als Abtreibungsmittel.

Zusatz von Saponin zu Kohlensäurebädern verhindert das Entweichen der Kohlensäure ganz wesentlich.

Die Frage, wer das erste reine Saponin in Händen hatte, ist nicht ohne weiteres zu beantworten. Sie ist davon abhängig, welche Kriterien für die Reinheit eines Saponins verlangt werden. Mit Sicherheit kann man von reinen Saponinen eigentlich erst von dem Zeitpunkt an sprechen, wo kristallisierte Saponine aufgefunden wurden.

Kobert[8]) teilte die Saponine in 2 Gruppen ein, in die sauren und neutralen Saponine. Er kam durch die sogen. Bleimethode zu diesen Begriffen. Versetzt man Saponinlösungen mit neutralem Bleiacetat, so werden manche Saponine ausgefällt, andere bleiben in Lösung und können erst durch Zusatz von basischem Bleiacetat ausgefällt werden.

Diese Einteilung in 2 Gruppen hatte so lange eine Berechtigung, wie man über die chemische Natur der Saponine noch wenig wußte. Die Saponine sind, wie oben erwähnt, sämtlich Glykoside und enthalten Hexosen, Pentosen, Methylpentosen und Glukuronsäure gepaart mit einem Genin[9]).

Heute wird man praktischer Weise ein anderes Einteilungsprinzip bevorzugen, das sich auf der chemischen Natur des nicht zuckerhaltigen Anteils des Moleküls, des Aglykons oder Genins, aufbaut. Durch die Methode der Selenhydrierung von O. Diels hat

6) Kobert, R., in Heffter's Handb. d. exp. Pharmakologie, S. 1509.
7) Zickgraf, Deutsche med. Wschr. *51*, Nr. 42 u. 49 (1891).
8) Kobert, Naunyn-Schmiedebergs Arch. *23*, 233 (1887).
9) Lettré u. Inhoffen, Über Sterine, Galensäuren und verwandte Naturstoffe, 1936, S. 156.

man 2 Gruppen von Geninen der Saponine unterscheiden gelernt, einmal die Methylcyclopenteno-Phenanthren (I) liefernden Saponine und diejenigen, die bei der Selendehydrierung Sapotalin (1, 2, 7-Trimethyl-naphthalin (II) ergeben.

Das von mir untersuchte Digitonin ist ein Saponin der Gruppe I.

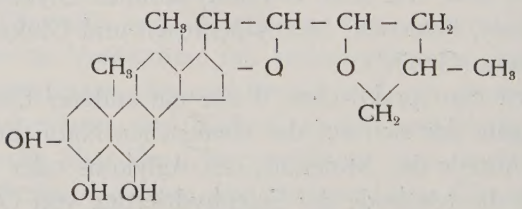
Lettré und Inhoffen haben folgende Tabelle der gut untersuchten Vertreter der neutralen Saponine und der aus ihnen durch Abspaltung der Zuckerreste gewonnenen Genine, zusammengestellt:

Digitonin aus Digitalis purpurea,	Digitogenin	$C_{27}H_{44}O_5$
Gitonin aus Digitalis purp.	Gitogenin	$C_{27}H_{44}O_4$
Tigonin aus Digitalis purp.	Tigogenin	$C_{27}H_{44}O_3$
Sarsasaponin aus Radix Sarsaparillae (Parillin)	Parigenin	$C_{27}H_{44}O_3$
Saponin aus Chlorogalum pomeridianum	Chlorogenin	$C_{27}H_{44}O_4$

Das von mir geprüfte Digitonin wurde aus Digitalissamen hergestellt und nach den Vorschriften von Windaus und Shah[10]) rein erhalten. Es hat die Formel: $C_{56}H_{92}O_{29}$[11]).

Bei der Spaltung mit Säuren liefert es das Aglukon Digitogenin und daneben 4 Moleküle Galaktose und 1 Molekül Xylose[12]). Die Spaltung verläuft nach folgender Gleichung: $C_{56}H_{92}O_{29} + 5\ H_2O = C_{27}H_{44}O_5 + 4\ C_6H_{12}O_6 + C_5H_{10}O_5$.

Das Digitogenin schmilzt bei 280—283° und hat die folgende Strukturformel[13]):



10) Z. Physiol. Chemie *151*, 86 (1926).
11) Lettré u. Inhoffen l. c. S. 161.
12) Kiliani u. Merck, Ber. D. Chem. Ges. *34*, 3564 (1901).
13) Lettré u. Inhoffen, l. c.

Beim Erhitzen mit Essigsäureanhydrid werden die 3 sekundären Hydroxylgruppen des Digitogenins acetyliert[14]). Das Triacetat hat den Schmelzpunkt 190°.

Zu meinen Versuchen benutzte ich die drei oben beschriebenen Produkte, das reine Digitonin, Digitogenin und Triacetyldigitogenin, ferner ein schon mehr als 12 Jahre altes, aus dem Handel bezogenes Digitonin. Als Versuchsobjekte dienten mir isolierte Froschherzen von Rana temporaria, Kaulquappen von Rana temporaria, Paramäcien und Blutkörperchen von Rinder-, Hammel- und Schweineblut.

Versuche mit Kaulquappen.

Overton[15]) untersuchte die Wirkung von Saponinen auf Kaulquappen. Er fand, daß Saponinlösungen von entsprechender Verdünnung sehr bald die Haut- und Kiemenepithelien der Tiere schädigen, so daß es zur Ablösung kommt, bevor überhaupt Saponin in merklicher Menge in den Organismus eindringt. Infolge der Abstoßung der Epithelien kommt es dann zu einem ungehinderten Diffusionsaustausch zwischen den Kristalloiden des Blutplasmas und der umgebenden Lösung. In salzarmen Lösungen gibt das Blutplasma seine Salze an die Lösung ab. Die dadurch hervorgerufene Hypotonie erzeugt eine starke Schwellung in allen Organen, die dann zur Wasserstarre und zum baldigen Tod führt. Overton wies nach, daß Kaulquappen in salzhaltiger Saponinlösung viel länger lebten.

Bei meinen Versuchen an Kaulquappen von Rana temporaria setzte ich je 10 Exemplare in 200 ccm der Lösungen und zwar benutzte ich für alle 4 Stoffe Konzentrationen von 1 : 150 000, 1 : 200 000, 1 : 250 000, 1 : 300 000, 1 : 350 000, 1 : 400 000, 1 : 450 000 1 : 500 000 in Leitungswasser. In einem gleichzeitig angesetzten Kontrollversuch wurden 10 Kaulquappen in Leitungswasser gehalten. Als Stammlösungen dienten mir Verdünnungen von 1 : 1 000 in 50%igem Alkohol. In reinem Digitonin von der Verdünnung 1 : 150 000 waren nach 2½ Stunden alle Tiere tot. Nach 4 Stunden waren in allen anderen Gläsern noch keine Veränderungen zu beobachten. Am andern Morgen waren im reinen Digitonin bis

14) Kiliani und Merck, l. c.

15) Overton, E.: Lunds Universitets Arsskrift N.F. Afd. 2 2. Nr. 7 (1913); *14*, Nr. 7 (1918).

1 : 350 000 alle tot, in 1 : 400 000 lebte nur noch eine Kaulquappe, während in den Gläsern mit Lösungen von Handels-Digitonin nur in 1 : 150 000 alle tot waren*). Im Handels-Digitonin hielten die Tiere bis 1 : 300 000 der Giftwirkung stand. Nach 24 Stunden waren in 1 : 200 000 und 1 : 250 000 je eine Kaulquappe noch am Leben, wogegen in 1 : 300 000 nur eine tot war.

In den Lösungen von Digitogenin überlebten alle Tiere.

Bei Triacetyldigitogenin starben innerhalb 24 Stunden noch in einer Verrdünnung von 1 : 500 000 die meisten Tiere. Nur in 1 : 450 000 und 1 : 500 000 zeigten je 2 Tiere auf Berührung noch schwache Bewegung.

Es ergaben sich also bei Beobachtung über 24 Stunden folgende tödliche Grenzkonzentrationen mit Kaulquappen:

Substanz	Grenzkonzentration
Digitonin rein	1 : 400 000
Handels-Digitonin	1 : 250 000
Digitogenin	—
Triacetyldigitogenin	1 : 500 000

In den 4 Kontrollgläsern mit je 10 Kaulquappen in 200 ccm Leitungswasser waren sämtliche Tiere am Ende des Versuchs am Leben.

Die durch Triacetyldigitogenin vergifteten Tiere zeigten ein anderes Aussehen als die in Digitonin rein und in Handels-Digitonin eingegangenen Tiere. Sie waren nicht grau und auch die Schwänze nicht eingerollt, so daß es den Anschein hatte, als seien sie mehr durch eine resorptive Lähmung, als durch dieß eschädigung der Kiemenepithelien zugrunde gegangen.

Versuche mit Paramäcien.

Paramäcien (Paramaecium caudatum) wurden aus einer Kultur in einem Heuaufguß in folgende Verdünnungen von Digitonin rein und Handels-Digitonin in Reagenzgläsern gebraucht: 1 : 20 000, 1 : 33 000, 1 : 40 000, 1 : 50 000, 1 : 66 400, 1 : 80 000, 1 : 100 000.

*) 24 Stunden nach Beginn des Versuches waren in reinem Digitonin von der tödlichen Grenzkonzentration 1 : 400 000 alle Tiere tot, bei 1 : 450 000 5 tot, bei 1 : 500 000 und in der Kontrolle alle lebend.

Im reinen Digitonin waren in 1 : 20 000 nach 5 Minuten alle Paramäcien tot, in der Verdünnung von 1 : 33 000 nach 40 Minuten fast alle. In Handels-Digitonin 1 : 20 000 waren nach 35 Minuten schon sehr viele Paramäcien tot. Nach 15 Stunden waren in reinem Digitonin in den Verdünnungen bis zu 1 : 50 000 sämtliche Tiere tot und in 1 : 66 400 nur noch wenige am Leben. Nach der gleichen Zeit waren in den Lösungen von Handels-Digitonin 1 : 20 000 und 1 : 33 000 alle Tiere tot.

Als tödliche Grenzkonzentration ergeben sich also für reines Digitonin 1 : 50 000 und für Handels-Digitonin 1 : 33 000.

Digitogenin und Triacetyldigitogenin konnten in diesen Versuchen nicht untersucht werden, da sie in den den beiden Saponinen entsprechenden Konzentrationen zu wenig löslich sind und ihre alkoholischen Lösungen zu unsichere Resultate ergeben hätten.

Versuche am isolierten Froschherzen.

Als Versuchsobjekte dienten Herzen von Rana temporaria in der Straub'schen Versuchsanordnung. Nachdem die Herzen einige Zeit mit Ringerlösung geschlagen hatten, wurden die Lösungen so zugegeben, daß in der Kanüle immer die gleiche Flüssigkeitsmenge von 1 ccm vorhanden war.

Als Beispiel diene folgender Versuch:

Isoliertes Temporarienherz, normale Frequenz 60 Schläge pro Minute, bei einer Hubhöhe von 18 mm. Auf Zugabe von Digitonin rein 1 : 100 000.

Nach	1	Minute	Hubhöhe	20	mm			
„	2	„	„	22	„			
„	3	„	„	23	„			
„	5	„	„	23,5	„	Frequenz	60	Schläge/Min.
„	10	„	„	24,5	„	„	60	„
„	20	„	„	26	„			
„	25	„	„	26	„	„	54	„

Nachdem 4 mal mit Ringerlösung ausgewaschen wurde, ging die Hubhöhe auf 19,5 mm zurück. Nach weiterem einmaligem Auswaschen trat eine Gruppenbildung auf von je 3 Schlägen bei 36

Tonuslage weiter, wobei die Hubhöhe auf etwa $^1/_7$ bis $^1/_8$ der normalen Hubhöhe abnahm. Durch Wechseln gegen Ringerlösung ging die Vergiftung zurück und die Hubhöhe wurde annähernd wieder die anfängliche.

Deutliche Unterschiede zwischen Digitonin rein und Handelsdigitonin waren am isolierten Temporarienherzen nicht zu erkennen.

Versuche mit Digitogenin:

Hubhöhe 19 mm und Frequenz 60/Min.

Auf Zusatz von Digitogenin 1:50000 stieg die Hubhöhe nach 1 Minute auf 24 mm, nach 2 Minuten auf 26 mm. Die Frequenz sank nach 5 Minuten auf 54 pro Minute. Bei mehrmaligem Auswaschen mit Ringerlösung wurde jedesmal eine deutliche „Auswaschwirkung" beobachtet, die in einem Wiederanstieg der Hubhöhe bis auf 30 mm bestand. Die Hubhöhe ging aber bei weiterem Auswaschen auf 24 mm zurück.

Es wurde dann Digitogenin 1:200000 zugegeben, worauf die Hubhöhe nach 1 Minute auf 25,5 mm, nach 2 Minuten auf 26,5 mm anstieg.

Beim wiederholten Auswaschen mit Ringerlösung stieg die Hubhöhe wieder auf 29 mm an, sank aber dann auf 18,5 mm ab. Auf Zufügen von Digitogenin 1:1 Million erfolgte noch eine schwache, aber deutliche Steigerung der Hubhöhe, die aber nach 2½ Minuten wieder zurückging.

Neuer Versuch mit Digitogenin.

Hubhöhe 15 mm. Digitogenin 1:500000 steigerte die Hubhöhe auf 17 mm. Beim Auswaschen dieser Vergiftung mit Ringerlösung erfolgte zunächst Zunahme der Hubhöhe, erst bei weiterem Auswaschen Abnahme derselben.

Digitogenin 1:250000 steigerte die Hubhöhe von 14,5 auf 17 mm, 1:100000 von 14 auf 18 mm und 1:50000 von 15,5 auf 20 mm.

Die Verstärkung der Hubhöhe beim Auswaschen mit Ringerlösung war in den Versuchen mit Genin viel deutlicher als in den

Kammerpulsen/Min. Darauf wurde wieder Digitonin rein 1 : 100 000 zugegeben. Nach 1 Minute war die Hubhöhe wieder auf 25,5 mm gestiegen. Die Gruppenbildung ging zurück; es traten zunächst Gruppen von 4, dann von 5 Kontraktionen auf, und nach 1 Minute war die Herzarbeit wieder völlig normal, die Hubhöhe 23,5 mm und die Frequenz 54 Schläge/Min. Dann wurde 3 mal mit Ringerlösung ausgewaschen. Die Hubhöhe sank auf 19 mm, die Frequenz blieb 54 Schläge pro Minute.

Nach weiterem 6maligen Auswaschen mit Ringer betrug die Hubhöhe 18 mm und die Frequenz 54 Schläge/Min. Auf Zusatz von Digitonin rein 1 : 500 000 erfolgte geringes Ansteigen der Hubhöhe. Nach 5 Minuten wurde gegen frische Lösung von Digitonin rein 1 : 500 000 umgewechselt. Die Hubhöhe stieg auf 19,5 mm. Dann wurde wieder 4 mal mit Ringerlösung ausgespült, worauf 7er Gruppen auftraten (14 Vorhofpulse = 14 Kammerpulse in 2 Gruppen zu je 7 mit 1 Puls Zwischenraum). Die Hubhöhe sank auf 13,5 mm. Nach Zusatz von Digitonin rein 1 : 100 000 war nach 50 Sekunden die Schlagfolge wieder normal, die Hubhöhe 16 mm, 1 Minute darnach 19,5 mm.

Nach 4 maligem Auswaschen mit Ringer stieg die Hubhöhe nach 8 Minuten auf 21,5 mm, die Frequenz fiel auf 21 Schläge/Min. Hier wurde Handelsdigitonin 1 : 100 000 zugegeben. In 15 Minuten stieg die Hubhöhe langsam auf 29 mm bei gleichbleibender Frequenz. Auf 5 maliges Auswaschen mit Ringer sank die Hubhöhe auf 23 mm und stieg dann auf Zugabe von Handelsdigitonin 1 : 100 000 wieder etwas an. Nach viermaligem Auswaschen mit Ringerlösung sank die Frequenz langsam auf 8 Schläge/Min., die Hubhöhe auf 20 mm. Am Schluß wurde noch Handels-Digitonin 1 : 500 000 zugegeben. Die Hubhöhe stieg noch einmal innerhalb 3 Minuten langsam auf 25 mm und die Frequenz auf 15/Min. An der Vergrößerung der Hubhöhe ist vorwiegend die Systole beteiligt, jedoch nimmt auch die diastolische Erschlaffung zu.

Reines und Handels-Digitonin führten bei den Versuchen in Verdünnungen von 1 : 50 000 zu einer vorübergehenden Verstärkung der Systole. Gleichzeitig steigen infolge einer Abnahme der diastolischen Erschlaffung die Fußpunkte an. Alsbald nahm auch die Systole ab und das Herz schlug nach etwa 15 Minuten in mittlerer

Versuchen mit dem Glykosid. Die Hubhöhe war nach der ersten Auswaschung meist sogar höher als unter der Wirkung des Genins selbst.

Versuch mit Triacetyldigitogenin.

Triacetyldigitogenin in der Verdünnung 1 : 100 000 führte keine deutliche Veränderung der Herztätigkeit herbei. In einem Versuch war eine geringe Abnahme der diastolischen Erschlaffung angedeutet. Bei der Konzentration 1 : 50 000 wurde die Systole meist etwas verringert, die Fußpunkte stiegen deutlich an. Die Vergiftung war durch Auswaschen mit Ringerlösung zu beheben, ohne daß dabei eine Auswaschwirkung auftrat.

Die Lösung 1 : 25 000 verringerte sowohl die Diastole als auch die Systole ganz erheblich, die Hubhöhe sank dabei von 13,5 auf 2,5 mm herab. Auch durch wiederholtes Auswaschen mit Ringerlösung konnte diese Vergiftung nicht mehr aufgehoben werden. Das Herz schlug im wesentlichen mit der unter der Giftwirkung erreichten Hubhöhe von 2,5 mm weiter.

Triacetyldigitogenin ist in Wasser so schwer löslich, daß Lösungen von 1 : 25 000 schon 4% Alkohol enthalten müssen, um das Präparat in Lösung zu halten. Die Verringerung von Systole und Diastole bei den Versuchen mit Lösungen von 1 : 50 000 und 1 : 25 000 kann daher im Zusammenhang mit dem hohen Alkoholgehalt von 2—4% stehen. Es ist aber unwahrscheinlich, daß die Wirkung ausschließlich auf Alkohol zu beziehen ist, da sie sonst durch Auswaschen stärker reversibel sein müßte.

Versuche über Hämolysewirkung.

Defibriniertes und durch Watte filtriertes Hammel-, Rinder- und Schweineblut wurde zentrifugiert und das Serum abgehoben. Nach Aufschwemmung des Bodensatzes mit 0,9%iger physiologischer Kochsalzlösung wurde wieder zentrifugiert und dieses „Waschen" insgesamt 4mal wiederholt. Die so „gewaschenen" Blutkörperchen wurden dann mit 0,9%iger NaCl-Lösung auf 1 : 200 verdünnt, d. h. es wurden die ursprünglich in 1 ccm Blut enthaltenen Blutkörperchen in 200 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt.

Aus den Stammlösungen 1 : 1000 in 50%igem Alkohol von Digitonin rein, Handels-Digitonin, Digitogenin und Triacetyldigitogenin wurden Verdünnungen von 1 : 20 000 und 1 : 100 000 in 0,9%iger NaCl-Lösung hergestellt. Ausgehend von diesen Verdünnungen wurden für jede der drei Blutarten 13 verschiedene Verdünnungen von 1 : 100 000 bis 1 : 1 Million bereitet. In ein Reagenzglas kam erst die entsprechende Menge der Stammlösung, die auf 1 ccm mit 0,9%iger NaCl-Lösung aufgefüllt wurde. Dazu wurden 4 ccm der Blutkörperchenaufschwemmung zugegeben, so daß in jedem Reagenzglas 5 ccm Flüssigkeit enthalten waren. Die Zeit der Füllung und des Eintritts der vollständigen Hämolyse wurde notiert. Die Dauer der Beobachtung wurde auf 3 Stunden beschränkt, nachdem einige Vorversuche gezeigt hatten, daß bei längerer Versuchsdauer die Feststellung der vollständigen Hämolyse unsicher wurde. Nachfolgende Tabellen zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen.

Rinderblutkörperchen.

Verdünnung	Hämolyse nach Minuten bei Digitonin rein	Handels-Digitonin
1 : 100 000	1½	3½
1 : 125 000	2½	5½
1 : 166 000	3½	8
1 : 200 000	5	16
1 : 250 000	6	—
1 : 333 000	9	—
1 : 400 000	—	—

und weitere Verdünnungen sowie Kontrolle

Hammelblutkörperchen.

1 : 100 000	1½	3½
1 : 125 000	2	6½
1 : 666 000	4	—
1 : 200 000	8	—
1 : 250 000	10	—
1 : 333 000	—	—

Schweineblutkörperchen.

1 : 100 000	1½	1½
1 : 125 000	4½	5
1 : 166 00	10	—
1 : 200 000	—	—

In dem Versuch mit Rinderblutkörperchen wurden auch Digitogenin und Triacetyldigitogenin auf ihre hämolytische Wirksamkeit untersucht. Es trat jedoch auch in der Konzentration 1 : 100 000 weder bei Digitogenin, noch bei Triacetyldigitogenin innerhalb von 3 Stunden Hämolyse auf, weshalb von der Anwendung dieser beiden Stoffe in den Versuchen mit Hammel- und Schweineblutkörperchen abgesehen wurde. Die Lösung 1 : 100 000 enthielt 1% Alkohol. Da stärkere Lösungen noch mehr Alkohol enthalten hätten, wären die Ergebnisse dementsprechend unsicher geworden.

Aus den Tabellen geht übereinstimmend hervor, daß das von mir hergestellte reine Digitonin in seiner hämolytischen Wirkung wesentlich stärker ist als das benutzte Handels-Digitonin. Die hämolyischen Grenzkonzentrationen zeigen aber je nach der Blutart deutliche Unterschiede.

Am empfindlichsten gegen die hämolytische Wirkung der Saponine erwies sich Rinderblut, Hammelblut war weniger empfindlich und die größte Resistenz wies Schweineblut auf.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei der Beurteilung der vorstehend geschilderten Versuche ist zunächst zu beachten, daß die von mir benutzten Präparate von Digitonin, Digitogenin und Triacetyldigitogenin nach den heutigen chemischen Kenntnissen über diese Stoffe als sicher frei von Verunreinigungen durch Nebensaponine (Gitonin, Tigonin) oder deren Derivate anzusehen sind. Dies ist von Bedeutung für den Vergleich meiner Ergebnisse mit Literaturangaben über die Wirkungen von Digitonin und Digitogenin.

---

16) F. Weinberg, Z. f. exp. Pathol. u. Therap. *20*, 153 (1919).

Besonders gilt dies für die Versuche an isolierten Froschherzen. Weinberg[16]) hat in Versuchen am Williams-Apparat mit einem Präparat von Digitonin-Kiliani in verschiedenen Verdünnungen folgende Wirkungen beobachtet:

1: 50 000 giftig
1:500 000 deutliche Steigerung
1:125 000 Höhepunkt und Umschlag
1:250 000 Anstieg
1:166 667 Anfangs noch geringe Steigerung, dann Schwächung. Durchspülung mit Ringer ohne Erfolg nach Vergiftung.

Ein Digitonin von Merck zeigte nach Weinbergs Angaben bei:

1:500 000 Erhöhung der Herzkraft
1:333 333 Vielleicht geringe Verstärkung
1:250 000 Schwächung des Herzens und Vergiftung in der typischen Weise
1: 50 000 stark giftig.

Weinberg hat auch mit Gehirnpräparaten aus Digitonin-Kiliani und Digitonin „Merck" gearbeitet. Dabei benutzte er Lösungen von Spaltprodukten, die er aus dem Saponin durch Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure selbst hergestellt hatte. Es ist daher nicht sicher, ob diese „Genine" nicht vielleicht noch unverändertes Saponin oder andere Produkte als Verunreinigung enthielten. Er fand mit dem „Anfangs-Sapogenin" aus Digitonin-Kiliani folgendes:

1:25 000 ohne Wirkung
1:12 500 beginnende Herzschwäche.

Mit dem Sapogenin aus Digitonin „Merck" erhielt er folgende Resultate:

1:25 000
1:12 500 } wirken als Reiz
1: 8 333

Bei 1: 8 333 erfolgt schon Schwächung, die
bei 1: 6 250 weitergeht.

Weinberg gibt selbst an, daß sein Digitonin-Kliliani noch Gitonin enthielt, also durch ein zweites Saponin der Digitalissamen verunreinigt war. Dasselbe gilt höchstwahrscheinlich für das Digitonin „Merck"; denn Windaus und Shah[17]) haben gezeigt, daß

17) Windaus und Shah, Z. physiol. Chemie *151*, 86 (1926).

nur durch das von ihnen benutzte Reinigungsverfahren die völlige Abtrennung aller Verunreinigungen vom Digitonin möglich ist.

Abgesehen von der Frage der Reinheit der Präparate lassen die Versuche Weinberg's auch nicht erkennen, in welcher Weise die von ihm beobachteten Wirkungen zustande kommen. Eine Steigerung der Herzleistung — abgesehen von der Beeinflussung der Pulszahl — könnte einerseits durch Vergrößerung der diastolischen Erschlaffung erfolgen, also durch eine Vergrößerung der Anfangsfüllung des Herzens, andererseits kann sie auch durch Verstärkung der systolischen Kontraktion zustande kommen. Für diese Fragen bieten die Ergebnisse Weinbergs keine Antwort.

Aus den weiter oben geschilderten Versuchen mit sicher reinem Digitonin und mit einem sehr wahrscheinlich noch durch Gitonin etc. verunreinigten Handels-Digitonin geht nun zunächst hervor, daß das Digitonin sowohl auf die Diastole wie auch auf die Systole wirkt. Diese Erscheinung ähnelt sehr dem sogenannten therapeutischen Stadium, das man bei Einwirkung von Herzgiften der Digitalisgruppe (Digitoxin, Strophanthin ect.) am isolierten Herzen sieht. Eine solche Verstärkung von Systole und Diastole kann noch bei Verdünnungen von 1:500 000 deutlich beobachtet werden. Außer dieser wohl als direkte Wirkung auf die Muskulatur aufzufassenden Erscheinung ist aber noch eine Beeinflussung der nervösen Elemente des Herzens zu erkennen. Die Schlagzahl wird zwar nicht deutlich verändert. Nach längerer Tätigkeit an der Kanüle unter Ringerlösung arbeiteten die Herzen öfters unregelmäßig, indem einzelne Vorhofpulse ausfielen, wodurch dann in der Kurve das bekannte Bild der sogenannten Gruppenbildung auftrat. Wurde in diesem Stadium nun Digitonin zugegeben, so zeigte sich eine günstige Wirkung auf die Reizbildung in einem Zurückgehen und schließlich völligem Verschwinden der Gruppen. Das Herz schlug dann wieder mit normaler Schlagfolge, und — wie schon erwähnt — unter Verstärkung von Systole und Diastole. Auch diese regulierende Wirkung des Digitonin auf die Reizbildung hat Ähnlichkeit mit den herzwirksamen Digitalisglykosiden. Zu erwähnen wäre noch die Erscheinung der „Auswaschwirkung" beim Wechseln der Digitoninlösungen gegen Ringerlösung, wobei es zunächst zu einer schwachen Verstärkung von Systole und Diastole kommt, die je-

doch im Gegensatz zu der eigentlichen fördernden Wirkung des Digitonins nur kurz anhält.

Bei den Versuchen mit Digitogenin zeigte sich am isolierten Froschherzen ebenfalls eine Steigerung von Systole und Diastole. Eine Wirkung auf die Reizbildung kam in den angestellten Versuchen nicht zur Beobachtung, da die oben erwähnten Erscheinungen der Gruppenbildung bei den hier verwendeten Herzen nicht auftraten. Dagegen war die „Auswaschwirkung" hier sehr deutlich und fiel ausgesprochener als in den Versuchen mit dem Glykosid, so daß unter der Wirkung des Auswaschens die Hubhöhen sogar noch über das unter Digitogenin erreichte Maß hinaus gesteigert wurden. Man mußte aus den Versuchen den Eindruck gewinnen, daß hier das Genin mindestens ebenso stark wirkte wie das Glykosid. Berücksichtigt man die Größe der Moleküle, so wird dies besonders deutlich. Das Molekulargewicht von Digitonin ist 1228, das von Digitogenin 448. Eine Lösung von Digitogenin 1 : 500 000 würde also etwa von gleicher molarer Konzentration sein wie eine Lösung von Digitonin 1 : 200 000. Die Wirkung dieser beiden Lösungen ist am isolierten Froschherzen praktisch die gleiche. Die „Auswaschwirkung" beim Wechsel gegen Ringerlösung ist bei dem Genin sogar sicher stärker. Diese Befunde sind deshalb besonders auffällig, weil in der Gruppe der pflanzlichen Herzgifte die Genine im allgemeinen erheblich schwächer wirken als die Glykoside, ganz besonders bei Berücksichtigung der Molekulargewichte.

Nach den Erfahrungen bei den pflanzlichen Herzgiften der Digitalisgruppe sollte man erwarten, daß die Azetylierung des Genins zu einer Verstärkung der Herzwirkung führen würde. Der Versuch zeigt aber, daß dadurch hier im Gegenteil eine Abschwächung eintritt. Eine Lösung 1 : 100 000 zeigte kaum eine Einwirkung auf die Herztätigkeit, schwächere Lösungen waren ganz ohne Wirkung. Stärkere Konzentrationen (1 : 50 000 und 1 : 25 000) schädigten die Herztätigkeit durch Verminderung von Systole und Diastole. Von einer günstigen Wirkung auf das Herz war also nichts festzustellen.

Bei den Versuchen am isolierten Froschherzen wurde kein Unterschied in den Wirkungen gleicher Konzentrationen von reinem Digitonin und von dem benutzten käuflichen Digitonin beobachtet.

An den anderen Versuchsobjekten waren aber deutliche Unterschiede zwischen den beiden Präparaten festzustellen.

Die Versuche mit Blutkörperchen von Rinder-, Hammel- und Schweineblut ergaben durchweg eine stärkere hämolytische Wirkung des reinen Digitonins gegenüber dem untersuchten käuflichen Präparat. Der Unterschied zeigte sich beim Vergleich an derselben Blutart schon in der Geschwindigkeit des Eintritts der Hämolyse unter der Einwirkung gleicher Verdünnungen beider Stoffe, ferner waren aber auch die hämolytischen Grenzkonzentrationen bei reinem Digitonin durchweg höher als bei dem benutzten Handels-Digitonin. Die Reihenfolge in der Resistenz der verschiedenen Blutarten stimmt bei beiden Präparaten überein: Die Blutkörperchen vom Schwein waren resistenter als die vom Hammel, diese wieder resistenter als die vom Rind. Diese Reihenfolge ist die gleiche wie die bereits von Kofler und Lázár[18]) bei der Untersuchung eines Digitoninpräparates gefundene. Aus den Hämolyseversuchen ergibt sich jedenfalls, daß der Unterschied in der chemischen Zusammensetzung beider Präparate auch in ihrer pharmakologischen Wirkung zum Ausdruck kommt. Offenbar sind die Begleitstoffe des Digitonins in dem käuflichen Präparat von geringerer hämolytischer Wirkung als das reine Glykosid.

Auffällig ist aber beim Vergleich mit den Versuchen am isolierten Froschherzen, daß an den Blutkörperchen keine Wirkung von Digitogenin und Triacetyldigitogenin festzustellen ist.

Das gleiche Bild wie die Hämolyseversuche bieten auch die Versuche an Paramäcien, wo sowohl hinsichtlich der Zeit bis zum Absterben in gleichen Konzentrationen als auch hinsichtlich der tödlichen Grenzkonzentration das reine Digitonin die stärkere Wirkung aufweist.

An Paramäcien wurden Digitogenin und Triacetyldigitogenin nicht geprüft, da sie in entsprechenden Konzentrationen wie die Saponinpräparate nur unter Zusatz erheblicher Mengen Alkohol in Lösung zu halten sind, wodurch aber sicher das Versuchsergebnis unklar geworden wäre.

---

18) Wien. Klin. Wschr. 1927. Nr. 1.

Versuche an Paramäcien mit den hier geprüften Stoffen sind in der Literatur bisher nicht beschrieben worden.

Die Versuche an Kaulquappen ergaben beim reinen Digitonin eine tödliche Grenzkonzentration von 1 : 400 000. Das käufliche Präparat wirkte auch hier schwächer, die Grenzkonzentration lag bei 1 : 250 000. Die erstere dieser Zahlen stimmt überein mit einer Angabe von Sieburg und Bachmann[19]) für ein Handelspräparat. Auch die Erscheinungen an den Tieren entsprechen den Angaben von Overton[20]). Charakteristisch war insbesondere die Einrollung des Schwanzes und ein Grauwerden des ganzen Tieres. Digitogenin zeigte in Konzentrationen bis 1 : 150 000 keinerlei Einwirkung auf die Kaulquappen. Im Gegensatz hierzu tötete Triacetyldigitogenin die Tiere noch in einer Verdünnung von 1 : 500 000 innerhalb 24 Stunden. Dabei war das Bild der vergifteten Tiere ein ganz anderes als das der Tiere in Saponinlösungen. Von Epithelzerstörungen, Einrollen des Schwanzes und grauer Verfärbung des ganzen Tieres war bis zum Tode nichts festzustellen. Dagegen wurden die Tiere schon nach einigen Stunden auffällig ruhig, bewegten sich auf Berührungsreize träger als die unter Digitogenin gehaltenen und als die unbehandelten Kontrolltiere. Die tödliche Vergiftung durch Triacetyldigitogenin scheint demnach bei Kaulquappen durch eine lähmende Wirkung zustande zu kommen, jedenfalls auf ganz andere Weise als die durch Digitonin, die ganz das von Overton beschriebene Bild ergab.

Vergleicht man die Ergebnisse der Versuche am isolierten Froschherzen, an Blutkörperchen, an Paramäcien und Kaulquappen untereinander, so erkennt man zunächst, daß reines Digitonin sowohl an Blutkörperchen als auch an Paramäcien und Kaulquappen deutlich stärkere Wirkungen aufwies, als das benötigte käufliche Digitonin. Am isolierten Froschherzen waren dagegen Unterschiede zwischen den beiden Präparaten nicht deutlich zu erkennen.

Der zuckerfreie Grundbestandteil des Digitonins, das Digitogenin, zeigte am isolierten Froschherzen grundsätzlich dieselben Wirkungen wie das Glykosid; es wirkte hier ebenso stark, hinsichtlich

19) Sieburg und Bachmann, Biochem. Z. *126*, 130 (1921/22).
20) Overton, Lund Universitets Aarskrift N F. Afd. 2, Bd. 9 Nr. 7.

der „Auswaschwirkung" z. T. sogar stärker. An den anderen Versuchsobjekten war dagegen keine Wirkung erkennbar bei Konzentrationen, deren Prüfung noch technisch durchführbar war.

Beim Triacetyldigitogenin sind an die Stelle der Zuckergruppen im Digitonin Essigsäurereste eingetreten. Die Wirkung am isolierten Froschherzen wird dadurch bedeutend herabgesetzt. Von einem fördernden Einfluß ist nichts mehr festzustellen, stärkere Lösungen führen nur Schädigungen herbei. An Blutkörperchen und Paramäcien sind die technisch möglichen Konzentrationen ohne Wirkung. An Kaulquappen zeigt sich dagegen eine starke Wirkung, aber von ganz anderem Charakter als beim Digitonin. Es treten hier lähmende Wirkungen hervor.

Zusammenfassung.

Reines Digitonin, Digitogenin und Triacetyldigitogenin wurden hinsichtlich ihrer Wirkungen auf das isolierte Froschherz, auf Blutkörperchen, Paramäcien und Kaulquappen untersucht und mit einem älteren Handelspräparat von Digitonin verglichen.

Am isolierten Froschherzen führte Digitonin zu einer erheblichen Verstärkung von Systole und Diastole, außerdem wirkte es günstig auf die Reizbildung. Digitogenin wirkte in gleicher Weise, unter Berücksichtigung der Molekülgröße mindestens ebenso stark wie Digitonin, die Auswaschwirkung beim Wechseln gegen Ringerlösung, in einer Verstärkung von Systole und Diastole bestehend, war beim Digitogenin deutlich stärker als beim Digitonin. Triacetyldigitogenin zeigte am isolierten Froschherzen nur in relativ starken Konzentrationen eine Wirkung; Systole und Diastole wurden dabei vermindert.

Bei den Versuchen mit Blutkörperchen erwies sich das reine Digitonin bei allen drei untersuchten Blutarten in seiner hämolytischen Wirksamkeit stärker als das käufliche Präparat. Das kam nicht nur im Endergebnis der Grenzkonzentrationen zum Ausdruck, sondern auch in der Geschwindigkeit, mit der die Hämolyse bei gleichen Verdünnungen eintritt.

Die größte Resistenz gegen die hämolytische Wirkung zeigten die Blutkörperchen von Schweineblut, dann die von Hammelblut und die geringste die von Rinderblut. Diese Reihenfolge war bei beiden Saponinen die gleiche.

Digitogenin und sein Acetylderivat bewirkten keine Hämolyse.

Die Versuche mit Paramäcien zeigten ein ähnliches Bild, wie die Hämolyseversuche. Das reine Digitonin wirkte auch hier viel stärker, als das Handelspräparat. Das ging sowohl aus der tödlichen Grenzkonzentration, als auch aus dem zeitlichen Eintritt des Absterbens der Tiere deutlich hervor. Digitogenin und Triacetyldigitogenin konnten bei diesen Versuchen nicht geprüft werden, da sie zur Lösung große Mengen Alkohol erfordern würden.

Eine stärkere Wirksamkeit des reinen Digitonins gegenüber dem käuflichen Produkt zeigten auch die Versuche an Kaulquappen. Das reine Digitonin wirkte hier noch in einer Konzentration von 1 : 400 000 auf die Tiere tödlich, während die Grenzkonzentration des Handelspräparats bei 1 : 250 000 lag. Digitogenin zeigte in Konzentrationen bis 1 : 150 000 keinerlei Einwirkung, während dagegen Triacetyldigitogenin noch in einer Verdünnung von 1 : 500 000 tödlich wirkte. Diese Grenzkonzentrationen wurden nach 24 Stunden festgestellt. Die Erscheinungen an den Tieren bei Vergiftung mit Digitonin glichen den in der Literatur angegebenen, während der Tod durch Triacetyldigitogenin ohne erkennbare Epithelschädigung durch lähmende Wirkung eingetreten zu sein scheint.

In der Gruppe der pflanzlichen Herzgifte sind bekanntlich die Genine die Träger der spezifischen Herzwirkung. Sowohl ihre in der Natur vorkommenden Derivate — die Glykoside der Digitalisgruppe — als auch ihre synthetischen Abkömmlinge — Ester mit den verschiedensten Säuren — besitzen den gleichen Wirkungscharakter.

Die Wirkungen des Digitogenins und seiner hier untersuchten Derivate bieten dagegen kein so einheitliches Bild. Bei dem Genin ist zwar noch die Herzwirkung erkennbar, dagegen nicht mehr die charakteristische hämolytische Wirkung des Digitonins. Besonders auffällig und andersartig ist das Verhalten des Triacetyldigitogenins. Es wirkt anders als die beiden anderen Stoffe. Es scheint, als ob in der Gruppe der neutralen Saponine die Zusammenhänge zwi-

schen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung nicht so klar sind wie bei den pflanzlichen Herzgiften der Digitalisreihe vom Glykosidcharakter und ihren Geninen.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. phil. et med. F. Flury meinen ergebensten Dank aussprechen für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates, sowie für seine mir jederzeit freundlichst erteilten Ratschläge.

Herrn Dozent Dr. phil. et med. Wilh. Neumann danke ich besonders für seine wertvolle Hilfe bei Ausführung der Versuche.

Lebenslauf.

Am 1. Januar 1913 wurde ich, Fritz Stumpf, als Sohn des Apothekers Adam Stumpf und seiner Frau Herta, geb. Roeder in Würzburg geboren.

Das Humanistische Alte Gymnasium in Würzburg absolvierte ich im März 1932.

Ich studierte Medizin an den Universitäten Würzburg (9 Semester) und Innsbruck (2 Semester). Das Physikum bestand ich am Ende des Winter-Semesters 1934/35 (nach 6 Semestern) an der Universität Würzburg. Das Medizinische Staatsexamen beendete ich im November 1937 ebenfalls an der Universität Würzburg.

Hiermit versichere ich ehrenwörtlich, daß ich außer den angegebenen Hilfsmitteln keine sonstigen benutzt habe.

Fritz Stumpf

Würzburg, November 1937.